

**EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR STÖRUNG
SEROLOGISCHER UND IMMUNOLOGISCHER METHODEN
DES SPERMANACHWEISES NACH DURCHFÜHRUNG
EINES SCHNELLTESTES**

von

Egon Bernd HEINERMANN

1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Leiter: Prof. Dr. Horst Leithoff

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR STÖRUNG
SEROLOGISCHER UND IMMUNOLOGISCHER METHODEN
DES SPERMANACHWEISES NACH DURCHFÜHRUNG
EINES SCHNELLTESTES

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der
Johannes Gutenberg-Universität
in Mainz

dem Fachbereich Medizin
vorgelegt von

Egon Bernd H E I N E R M A N N
aus Ludwigshafen

Mainz 1980



Fachbereichsdekan : Prof. Dr. med. H. Leithoff

1. Gutachter : Prof. Dr. med. G. Walther

2. Gutachter : Prof. Dr. med. H. Leithoff

Tag der mündlichen Prüfung : 19. März 1980

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG

- 1.1 Zweck und Zwecksetzung des Buches
- 1.2 Entstehung und Entwicklung des Buches
- 1.3 Zielsetzung und Zwecksetzung des Buches
- 1.4 Zielsetzung und Zwecksetzung des Buches

2. KAPITEL DER VERFAHREN

2.1 Verfahrenstechnik

2.1.1 Einleitung in die Verfahrenstechnik

2.1.2 FÜR MEINE ELTERN

2.1.3 UND

2.1.4 MEINE FRAU

2.1.5 IN GROSSER DANKBARKEIT

3. ANHANG

- 3.1 Anhang der verschiedenen Verfahrenstechniken
- 3.2 Anhang der verschiedenen Verfahrenstechniken

4. LITERATUR

- 4.1 Literatur der verschiedenen Verfahrenstechniken
- 4.2 Literatur der verschiedenen Verfahrenstechniken

INHALTSVERZEICHNIS

1.	E I N L E I T U N G	Seite
1.1	Über die Geschichte forensischer Untersuchungen von Spermaspuren	1
1.2	Grundlagen und praktische Durchführung des hier benutzten Schnelltestes	7
1.3	Problemstellung	9
2.	M A T E R I A L U N D M E T H O D E	
2.1	Voruntersuchungen	
2.1.1	Ein hochtitriges, polyvalentes O-Serum	9
2.1.2	Testblutkörperchen	11
2.1.3	Anti - H - Serum	11
2.2	Auswahl der Probanden	11
2.3	Spermagewinnung, Herstellung und Lagerung der Spermaspuren	13
2.4	Versuchsanordnung und Durchführung	
2.4.1	Serologische Untersuchungen	15
2.4.2	Immunologische Untersuchungen	
2.4.2.1	Das Antihumanspermaserum	15
2.4.2.2	Das eingeeengte Spureneluat	16
2.4.2.3	Die Immunelektrophorese	17
3.	E R G E B N I S S E	
3.1	Ergebnisse der serologischen Untersuchungen	22
3.2	Ergebnisse der immunologischen Untersuchungen	23
4.	D I S K U S S I O N	27
4.1	Diskussion der Ergebnisse der serologischen Untersuchungen	27
4.2	Diskussion der Ergebnisse der immunologischen Untersuchungen	28

5.	ZUSAMMENFASSUNG	31
6.	ANHANG	33
7.	LITERATUR	44

1. EINLEITUNG

1.1 Über die Geschichte forensischer Untersuchungen von Spermaspuren

Der gerichtsmedizinische Nachweis von Sperma in verdächtigen Spuren ist für die forensische Beurteilung von Sittlichkeitsdelikten und auch in Ehescheidungssachen oft von entscheidender Bedeutung. Durch den Nachweis von Spermaspuren kann im Rahmen der kriminalpolizeilichen Ermittlungen bei der Suche nach einem unbekannten Sexualtäter eine gewisse Vorselektion getroffen werden.

Nachdem HAM 1677 die "Samenthierchen" entdeckt hatte und LEEUWENHOEK dies durch eigene Forschungen bestätigte (30) setzte sich der mikroskopische Nachweis der Samenzelle als Beweis für das Vorhandensein von Sperma allgemein durch. Es gibt aber Fälle, bei denen der mikroskopische Nachweis von Spermatozoen nicht gelingt. Dabei kann es sich um eine Oligo- oder Azoospermie handeln. Möglich ist es aber auch, daß durch eine Art Abfiltration durch Stoffschichten o. ä. die Samenzellen zurückgehalten werden oder es handelt sich um wenige Tropfen einer weitgehend samenzellenfreien Fraktion.

Somit ist es verständlich, daß man schon frühzeitig versuchte, zusätzliche oder dem Nachweis der Samenzelle gleichwertige Untersuchungsmethoden zu finden.

1897 beobachtete FLORENCE (8) die Bildung von Jodcholinkristallen bei Zusatz von Jodkaliumlösung zum Ejakulat. Diese Reaktion ist jedoch auch mit anderen Substanzen positiv und demnach nicht spezifisch (15,16,38). 1936 beschrieb PURANEN eine Kristallreaktion mit Naphtol-Gelb-S, die auf dem Vorhandensein von Spermin beruht (43). Sie ist zwar spezifisch, aber oft negativ, obwohl die untersuchten Spuren spermabedingt sind (5,38).

1935 wurde von der Arbeitsgruppe um KUTSCHER das Enzym "saure Phosphatase" im Prostatasekret und damit auch im Ejakulat entdeckt und später von anderen Autoren weiter charakterisiert (23-25). Die saure Phosphatase hydrolysiert die verschiedensten natürlichen und synthetischen Monophosphatester. Das natürliche Substrat ist das Phosphorylcholin.

In den folgenden 10 - 20 Jahren waren im Schrifttum immer wieder Publikationen zu finden, die die Tatsache des Vorhandenseins von saurer Phosphatase in einer verdächtigen Spur als beweisend anerkennen. Als Grundlage dienen quantitative Messungen, wobei nur oberhalb einer bestimmten Aktivität der Beweis zulässig ist (54). Es wurden aber auch andere qualitative - meist Farbreaktionen - Nachweise entwickelt. BOLTZ und PLOBERGER (3) benutzten als Substrat Phenolphthaleinphosphat, wobei das freigesetzte Phenolphthalein mit Hilfe eines alkalischen Puffers eine Rotfärbung ergibt. Die übrigen Verfahren beruhen auf der Verwendung eines naphtholsubstituierten Phosphates als Substrat und Simultankupplung oder auch Postkupplung mit einem Diazoniumsalz.

Es wurden aber, besonders im deutschsprachigen Schrifttum, zahlreiche Argumente vorgebracht, daß sich der Beweis von Sperma in verdächtigen Spuren nicht allein auf den Nachweis der sauren Phosphatase begründen darf. Im englischsprachigen Schrifttum sind aber auch heute noch immer wieder Veröffentlichungen gegenteiliger Meinungen zu finden.

Die Anfertigung des beweisenden mikroskopischen Präparates und die Begutachtung sind zwar einfach, verlangen aber dem Grunde nach den Einsatz eines Biologen oder Mediziners mit entsprechender technischer Assistenz. Bei kriminalpolizeilichen Ermittlungen müssen aber öfter eine

größere Anzahl von verdächtigen Personen oder Spuren-trägern sofort untersucht werden. Hierfür wäre eine einfache Farbreaktion geeignet, die auch von Laien durchgeführt werden kann. Als Grundlage einer solchen Reaktion bietet sich die Existenz der sauren Phosphatase an, wobei die von WALKER, BERG u. a. beschriebenen Methoden gut geeignet sind (1,53).

Die folgenden wichtigen Entdeckungen vergrößerten die Anzahl der Möglichkeiten, nach menschlichem Samen in verdächtigen Spuren zu fahnden.

1910 wies MOSS als erster nach, daß die Blutgruppensubstanzen des ABO-Systems nicht nur an die korpuskulären Elemente des menschlichen Blutes gebunden sind, sondern auch frei im Serum vorkommen (41). SCHIFF konnte 1924 mit Hilfe eines vom Kaninchen stammenden Immunserums nachweisen, daß im menschlichen Serum gruppenspezifische Rezeptoren vorhanden sind (48). In den folgenden Jahren wurden diese von vielen Autoren in anderen Körperflüssigkeiten wie z. B. im Speichel, Sperma, Fruchtwasser, Urin, Schweiß u. a. entdeckt und beschrieben (2,4,6,9,12,20,22,26,27,40). PUTKONEN (44) fand 1930, daß es Ausscheider und Nichtausscheider dieser Gruppensubstanzen gibt, was LEHRS (28) im gleichen Jahr bestätigte. Nachdem Putkonen 1930 unter 229 Personen 14 % Nichtausscheider fand (44), wurden die entscheidenden Erkenntnisse 1932 von SCHIFF und SASAKI (50) veröffentlicht. Sie "vernachlässigten bewußt kleinere Unterschiede" und fanden zwei scharf getrennte Typen: Ausscheider und Nichtausscheider, wobei sie jedoch einräumten, daß Nichtausscheider doch eine geringe, kaum nachweisbare Menge der Blutgruppensubstanzen ausscheiden können. Gleichzeitig stellten sie fest, daß das Ausscheidermerkmal für sich allein ohne Beziehung zur Blutgruppenzugehörigkeit vererbt wird.

Der Faktor für Ausscheidung, den sie mit " S " (= Sekretor) bezeichneten, müßte ihrer Meinung nach dominant vererbt werden gegenüber dem Faktor " s " (= Nichtausscheider). Sie fanden heraus, daß der Anteil von " s " etwa 30 % betrug. Auf Grund von Familienstudien bewiesen sie die Dominanz der Vererblichkeit für " S " (50). Warum ein Teil der Menschen die Fähigkeit besitzt, die Blutgruppensubstanzen auszuschcheiden und andere nicht, wurde oft besprochen (12,35,36,42).

1962 bestätigten POPIVANOV und VULCHANOV (40) die Ausscheidung von Gruppensubstanzen im Sperma. Über die Häufigkeit der Sekretoren im Verhältnis zur prozentualen Verteilung der einzelnen Blutgruppen des ABO-Systems gab es die verschiedensten Auffassungen (11,37). Nachdem WIENER und KOSOFSKI festgestellt hatten, daß Angehörige der Blutgruppe O, H - Substanzen (= heterogene Antigene) ausscheiden (10,55), beobachteten CLARKE und Mitarbeiter, daß a l l e Sekretoren eine mehr oder weniger große Menge H - Substanz ausscheiden (6). PLATO und GERSCHOWITZ (39) bestätigten die Ergebnisse früherer Beobachter, daß die Relation der vorhandenen Blutgruppe zur H - Substanz genetisch festgelegt sei. Auf Grund der Tatsache, daß alle Sekretoren das heterogene Antigen " H " ausscheiden, kann der Nachweis, ob ein Mensch Ausscheider ist oder nicht, mit dem " Anti - H - Serum " geführt werden. Dieses Serum kann aus dem Samen von EVONYMUS EUROPAEA gewonnen werden. Die durchschnittliche Frequenz der " Sekretoren " in Europa beläuft sich auf 75 - 78 %. Nach der Entdeckung des MN - Blutgruppensystems wurde leider auch hier eine Untergruppe mit " S " bezeichnet, so daß bei der Bezeichnung der Ausscheider bzw. Nichtausscheider auf " Se " und " se " ausgewichen ist. Nach PUTKONEN (44) werden im menschlichen Speichel und Sperma gleichviel und in gleicher

Höhe Blutgruppensubstanzen ausgeschieden; bedeutend mehr als in anderen Körperflüssigkeiten.

Diese Tatsachen haben dazu geführt, daß in der forensischen Medizin der Nachweis von Blutgruppensubstanzen in einer möglichen Spermaspur mit zu den wichtigsten Beweismitteln gehört. Hierdurch ist es möglich, den Kreis verdächtiger Männer einzuschränken.

Nachdem Anfang der 50iger Jahre die Immunelektrophorese entwickelt worden war, war eine weiterführende Untersuchungsmethode hinzugekommen. " Die Vorteile der immunchemischen Reaktionen sind ihre hohe Empfindlichkeit und ihre Spezifität. " " Der größte Nachteil der immunchemischen Methoden ist die Schwierigkeit gleichmäßig aktive Antikörperpräparate herzustellen. " Die Äußerungen von GRABAR (13) 1953 zeigten deutlich die Vor- und Nachteile auf. Grabar versuchte deshalb im gleichen Jahr mit WILLIAMS (14) die Möglichkeit zu schaffen, " zu gleicher Zeit eine physikalische und immunchemische Reaktion zu verbinden , die wir IMMUNELEKTROPHORETISCHE ANALYSE nennen. " 1958 verwendeten HERMANN und Mitarbeiter (17) die Immunelektrophorese zur Klärung der Identität von Serum- und Spermaplasmaeiweißkörpern, da die bisherigen Methoden (Makro- und Papierelektrophorese) keine zufriedenstellenden Ergebnisse bezüglich der Anzahl der Eiweißfraktionen und der Zuordnung der Gipfel brachten. LEITHOFF (20) wies 1961 im menschlichen Samenplasma immunelektrophoretisch Albumine, gelegentlich auch verwaschene Präzipitate an der Auftragstelle und im Gammaglobulinbereich nach, wenn er Anti - Mensch - Serum vom Kaninchen verwendete. Mit Hilfe eines Anti-Menschsperma-Serums vom Kaninchen konnten 5 - 7 Antigenkomponenten dargestellt werden. Mit menschlichem Serum fanden sich nur 1 - 2 verwaschene, schwache Präzipitate. Mit frischem Bullensperma dagegen trat keine Präzipitation auf. Hierdurch

schien erwiesen, daß durch die Immunisierung eines Kaninchens mit menschlichem Samenplasma ein Antiserum gewonnen werden kann, das art- und organspezifische Antikörper gegen menschliches Sperma hat. Gleichzeitig gelang der Nachweis auch mit eingeeengter Mazerationsflüssigkeit angetrockneter Flecken von Blut und Sperma. Leithoff wies darauf hin, daß auch ohne mikroskopischen Spermatozoennachweis eine Unterscheidung von Spermaflecken gegen andere gut möglich sei. RAMBOW, LEITHOFF und HIERSCHE (46) konnten jedoch nachweisen, daß dieses " Antihumanspermaserum " nicht organspezifisch ist, sondern Antigene z. B. von Speichel, Nasensekret u. a. präzipitiert. Es könnten dauerhafte Präparate geliefert werden, die auch später noch Beweiskraft hätten. Mit Hilfe der Immuoelektrophorese nach der Mikromethode SCHEIDEGGERS (47) und der Technik von SCHWICK (51) wiesen LEITHOFF, H. und LEITHOFF, J. (33) nach, daß nicht eingeeengtes Samenplasma mit Anti-Mensch-Serum ein kräftiges Präzipitat mit der Wanderungsgeschwindigkeit des Albumins bringt. " Serologisch erwies sich diese Fraktion bei der Verwendung eines spezifischen Anti-Albumin-Serums als Albumin. " Mit eingeeengtem Samenplasma fanden sie bis zu 11 Fraktionen, die, wenn auch nicht so zahlreich und kräftig, deutliche Ähnlichkeit mit den Präzipitaten des Blutserums zeigten.

Andere Autoren (30,32,36,45) beobachteten bis zu 6 Präzipitate. In den Folgejahren wurden in weiteren Veröffentlichungen 4 - 7 Banden mitgeteilt. Die Gründe für die unterschiedliche Anzahl der gefundenen Eiweißfraktionen sah KIPPING (21) in:

- a) der Art der Methodik (freie Elektrophorese, Papierelektrophorese, Immuoelektrophorese)
- b) der Vorbehandlung des aufzutrennenden Spermplasmas (Sedierung, Abzentrifugierung u. a.)
- c) der elektrischen Spannung bei der elektrophoretischen Auftrennung (zwischen 70 und 380 Volt)
- d) der Wahl des Puffers in Bezug auf pH und Ionenstärke.

1.2 Grundlagen und praktische Durchführung des hier benutzten Schnelltestes

Die Firma E. MERCK, Darmstadt, hat ein für die Hand des Laien bestimmte Testkombination entwickelt, die sich zur Zeit noch in Erprobung befindet. Eine violette Farb-reaktion soll dem Kriminalbeamten am Tatort Hinweise auf das Vorhandensein von Ejakulatspuren geben. Die Farb-reaktion beruht auf der Präsenz der sauren Phosphatase. Aus Natrium - α - Naphthylphosphat wird α - Naphthol abgespalten und durch Kupplung mit einem Diazoniumsalz ein Azofarbstoff gebildet. Aus patentrechtlichen Gründen konnte die Herstellerfirma über die chemische Zusammensetzung nur soviel mitteilen:

Der Schnelltest besteht aus:

- 1.) dem Lösungsmittel - eine mit Trinatriumcitrat gepufferte Lösung aus Natrium - α - Naphthylphosphat in Wasser mit stabilisierenden Zusätzen mit einem pH von 4,8.
- 2.) der Reaktionszone des Teststreifens, Echtblausalz B auf Spezialpapier (0,5 x 0,5 cm), das auf das Ende eines Kunststoffstreifens aufgeschweißt ist.

Die chemische Reaktion läuft wie folgt ab:

Aus Natrium - α - Naphthylphosphat spaltet die saure Phosphatase α - Naphthol ab. Dieses reagiert mit Echtblausalz B unter Bildung violett gefärbter Azoverbindungen.

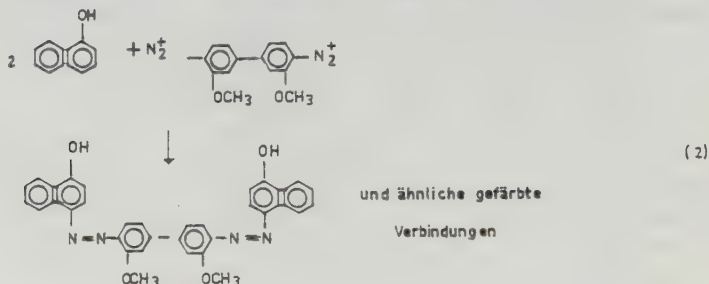


Abb. 1 : Enzymatische Farbreaktion des Sperma-Suchtests von MERCK

Der Hersteller hat folgende Richtlinien für die Handhabung des Testes herausgegeben:

Die zu untersuchende Stelle ist mit einigen Tropfen des Lösungsmittels anzufeuchten und nach dessen Einwirken von 1 Min. soll das Teststäbchen mit seiner Reaktionszone auf die angefeuchtete Stelle gepreßt werden. Nach weiteren 30 Sek. soll ausgewertet werden. Zur Gewährleistung der Haltbarkeit sollen beide Teile bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden, und gegen Feuchtigkeitseinwirkungen werden die Teststreifen in Kontakt mit einem hygroskopisch wirkendem Mittel aufbewahrt. Das Lösungsmittel soll dunkel aufbewahrt werden, da sich bei Lichteinfluß Trübungen und Bodensatz bilden.

1.3 Problemstellung

Wie aus dem bisher Gesagten hervorgeht, ist es sicherlich für jeden, der in der Spurensicherung bei einem möglichen Sexualdelikt tätig wird, angenehm und zeitsparend, einen Schnellnachweis von Sperma in verdächtigen Flecken zur Hand zu haben. Aber andererseits wäre es verhängnisvoll, wenn die Anwendung eines solchen Testes eventuell notwendige, zusätzliche Untersuchungen störend beeinflussen würde. Dabei handelt es sich um den Versuch des Nachweises der Blutgruppe und die immunoelektrophoretische Eiweißdifferenzierung. Zusätzlich könnte es aber auch geschehen, daß eine negative Beeinflussung erst auftritt, wenn die untersuchte Spur nicht mehr frisch ist und unter verschiedenen Bedingungen bis zur Auffindung gelegen hat. Aus diesem Grunde sollen frische Spermaspuren und solche nach einer Lagerung bis zu einem Jahr (Zimmerbedingung , Brutschrank , Kühlschrank) getestet werden und danach serologisch sowie immunologisch untersucht werden , um festzustellen , ob der ganze Test oder einer seiner Bestandteile störend wirken kann . In der Arbeitsgruppe mit GERKHARDT (58) oblag mir die Untersuchung der frischen und kurzfristig gelagerten Spuren .

2. MATERIAL UND METHODE

2.1 Voruntersuchungen

2.1.1 Ein hochtitriges, polyvalentes O-Serum

Scheidet ein Träger der Blutgruppen A, B oder AB blutgruppenspezifische Substanzen aus, so läßt sich in einem Arbeitsgang das Ausscheidermerkmal und die Blutgruppenzugehörigkeit feststellen. Hierzu benötigt man ein polyvalentes Antiserum, das Antikörper gegen die auf den Erythrozyten haftenden Antigene besitzt. Das Serum der Blutgruppe O hat diese Eigenschaft.

Gleichzeitig soll es auch hochtitrig sein, um in größeren Verdünnungsreihen eine bessere Aussage machen zu können.

Ein Kollege mit der Blutgruppe O hatte ein solches hochtitriges Serum. Er stellte sich zur Herstellung des polyvalenten Antiserums zur Verfügung. Das entnommene Venenblut wurde nach DAHR (7) aufbereitet:

Das Vollblut wurde 2 - 3 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und anschließend über Nacht im Kühlschrank belassen, um eventuell vorhandene Kälteagglutinine abbinden zu lassen. Danach wurde es bei 3000 U/min zentrifugiert und das überstehende Serum abpipettiert. Dieser Vorgang wurde wiederholt, um eventuell noch vorhandene rote Blutkörperchen ganz zu entfernen. Anschließend wurde das Serum 30 Min. im Wasserbad bei + 56°C inkubiert, um seine agglutinierende Wirkung zu steigern. Da bei meinen Untersuchungen die Untergruppen des ABO-Systems nicht berücksichtigt werden sollten, wurde das Serum durch die Zugabe von A₂-Erythrozyten von seinen A₂-Antikörpern befreit. Da das Serum gegen A₂ eine Titerhöhe von 1 : 32 aufwies, wurde nach DAHR dem Serum im Verhältnis 2 : 1 die Erythrozyten zugegeben. Zur Absorption wurde das Gemisch 30 Min. bei Raumtemperatur möglichst gleichmäßig geschüttelt. Anschließend wurden die agglutinierten Erythrozyten abzentrifugiert und das überstehende Serum abpipettiert. Das gewonnene Serum wurde dann gegen A₁, A₂ und B Testblutkörperchen antitriert. (s. Anhang Tab. 1) Dieses Serum wurde im Kühlschrank aufbewahrt und bei Bedarf neu hergestellt. Die Titerhöhen dieses Serums sind im Anhang aus Tab. 2 ersichtlich.

Wegen des Umfanges der Bestimmungen habe ich auf eine mikroskopische Betrachtung verzichtet, obwohl festzustellen war, daß hier bei einer Titerhöhe von 1024 noch deutlich Erythrozytenagglutinationen zu sehen waren.

2.1.2 Testblutkörperchen

Die Testblutkörperchen des ABO-Systems wurden wöchentlich frisch von der Transfusionszentrale der Universitätsklinik Mainz in der Form von Citratblut bezogen. Die zur Absorption der A_2 -Antikörper des Serums benötigten A_2 -Erythrozyten wurden von einem Angehörigen der Blutgruppe durch Venenblut entnommen. Das Blut wurde in isotonischer Kochsalzlösung 3 x gewaschen, und von dem Erythrozytenkonzentrat wurde eine 2 - 3%ige Suspension hergestellt.

2.1.3 Anti - H - Serum

Die Erythrozyten der Blutgruppe O besitzen keine Antigene, so daß sie von keinem andern Blutserum agglutiniert werden können. Sie besitzen jedoch das heterologe Antigen " H ", das bekanntlich alle Ausscheider besitzen. Nur ein Serum, das gegen " H " gerichtete Antikörper hat, vermag die Blutkörperchen der Gruppe O zu agglutinieren. Ein solches Serum wird aus den Samen verschiedener Pflanzen gewonnen und kann so helfen, die Blutgruppe O per exclusionem zu beweisen. Das von mir verwendete Anti - H - Serum (Phytagglutinin) wurde von den BEHRINGWERKEN, Marburg, aus LABURUM KUPIUM in Natriumacid 1mg/ml extrahiert.

2.2 Auswahl der Probanden

Da alle Ausscheider blutgruppenspezifische Substanzen ausscheiden, läßt sich in e i n e m Arbeitsgang das Ausscheidermerkmal " Se " u n d die Zugehörigkeit zu den Blutgruppen A, B oder AB feststellen.

Ich mußte bei meiner Arbeit davon ausgehen, daß alle bereitwilligen Spermaspender auch Ausscheider der Blutgruppensubstanzen waren. Gleichzeitig wollte ich versuchen, für alle Gruppen des ABO-Systems gleichviele Spender zu finden.

Leider war letzteres nicht möglich. Da im Sperma und im Speichel gleichviel der Gruppensubstanzen ausgeschieden wird (29), wurde jedem möglichen Probanden eine Speichelprobe auf einem Filterpapierstreifen entnommen und bei Raumtemperatur getrocknet. Anschließend wurden die Speichelproben nach HOLZER (18) auf die Blutgruppenzugehörigkeit und das Ausscheidermerkmal untersucht. Von der getrockneten Speichelprobe wurden 10 mg auf einer Analysenwaage abgewogen, zerkleinert und in ein Inkubationsröhrchen aus Kunststoff eingefüllt. Das Gewicht des Filterpapiers wurde "bewußt vernachlässigt" (18). Zu der eingewogenen Menge Spur wurde die 10-fache Menge des polyvalenten O-Serums mit einer EPPENDORF - Mikroliterpipette (= 0,1 ml) hinzugegeben. Nach Verschuß des Röhrchens und kräftigem Schütteln zur besseren Verteilung des Serums, verblieben die Inkubate 24 Stunden bei + 5°C im Kühlschrank. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde die Spitze des Röhrchens durchstoßen, das Serum abzentrifugiert und anschließend mit isotonischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 1 verdünnt, um einerseits das Prozonephänomen zu verhindern und andererseits um mehr Serumflüssigkeit zur Austitrierung zu erhalten. In Tüpfelplatten aus Glas, wie sie bei Blutgruppenbestimmungen Verwendung finden, wurden Titerreihen bis zu einer Höhe von 1 : 16 hergestellt. Jetzt wurde die gleiche Menge der 2 - 3%igen Erythrozytensuspension hinzugegeben und für 20 Min. in einer feuchten Kammer inkubiert. Anschließend wurde mit einer Lupe auf Agglutination geprüft. Die Ergebnisse wurden in vorbereitete Protokollbögen zum Vergleich der späteren Ergebnisse aus den Untersuchungen der Spermaspuren eingetragen. Zeigte die Untersuchung, daß eine Gruppe der Testerythrozyten nicht agglutiniert wurde, so stand die Blutgruppenzugehörigkeit und das Ausscheider-

merkmal " Se " fest. Wurden dagegen alle Testblutkörperchen agglutiniert, so lag entweder die Speichelprobe eines Nichtausscheiders oder eines Ausscheiders der Blutgruppe O vor. In einem solchen Fall wurde die Untersuchung mit dem Anti - H - Serum wiederholt. Fand sich nun keine Agglutination mit O-Erythrozyten, so war bewiesen, daß es sich um die Probe eines Ausscheiders der Blutgruppe O handelte. Bei einer Agglutination stammte die Probe von einem Nichtausscheider.

Von 79 jungen Männern wurde die Speichelprobe untersucht, und es ergab sich ein Prozentsatz von Nichtausscheidern von 44,30 %. Später sagten noch 12 geeignete Spermaspender ab, so daß meine Untersuchungen nur an 32 Spermaproben durchgeführt werden konnten. Dabei ergab sich folgende Verteilung auf die einzelnen Blutgruppen:

Blutgruppe A	=	14 Spender	
Blutgruppe B	=	7 Spender	
Blutgruppe AB	=	5 Spender	
Blutgruppe O	=	6 Spender	n = 32 Spender.

Die Ergebnisse der Speicheluntersuchungen sind tabellarisch im Anhang (Tabelle 3) aufgeführt.

2.3 Spermagewinnung, Herstellung und Lagerung der Spermaspuren

Die Spermaspender gewannen das benötigte Ejakulat nach 2-tägiger sexueller Karenz durch Masturbation. Nach der erfolgten natürlichen Verflüssigung des Spermas wurden je 0,1 ml auf vorbereitete Nesselstoffflecke von 6 cm Durchmesser ($F = 28,26 \text{ cm}^2$) aufgetropft. Um den Verlust an Samenplasma so gering als möglich zu halten, waren die Flecke auf eine Resopalunterlage gelagert, damit durchgesickertes Plasma beim Trocknen wieder aufgesaugt werden konnte.

Von der Samenflüssigkeit jedes Probanden wurden 21 Spuren hergestellt, die unter verschiedenen Bedingungen und über verschiedene Zeiträume gelagert wurden. Außer einer sogenannten Sofortserie, d. h. die Spuren wurden nach dem Eintrocknen des aufgetropften Sperma getestet und untersucht, wurden zwei weitere Reihen angefertigt:

- 1.) Lagerung über die Dauer von 4 Wochen
- 2.) Lagerung über die Dauer von 8 Wochen.

Diese Reihen wurden verschiedenen Lagerungsbedingungen ausgesetzt. Eine Reihe lagerte bei Zimmertemperatur, eine zweite bei + 5°C im Kühlschrank und eine dritte bei + 40°C im Brutschrank. Um feststellen zu können, welcher Bestandteil des Testes eine negative Beeinflussung ausüben könnte, wurden von jeder Probe eines Probanden 3 verschiedene Spuren einer Reihe anders vorbehandelt:

- Spur a = Nativspur, d. h. sie sollte serologisch und immunologisch untersucht werden, o h n e mit einem Teil des Tests in Berührung gekommen zu sein.
- Spur b = die Spur wurde n u r mit dem Lösungsmittel angefeuchtet und nach dem Antrocknen untersucht.
- Spur c = vor den weiteren Untersuchungen wurden diese Spuren vollständig getestet.

Die Spuren wurden noch nach folgendem Schlüssel zusätzlich gekennzeichnet:

- A1, B1 usw. = Spender mit der Blutgruppenzugehörigkeit in fortlaufender Nummerierung
- 0 = frische nicht gelagerte Spur
- 1 = Lagerungszeit 1 Monat
- 2 = Lagerungszeit 2 Monate
- L = Lagerung bei Zimmertemperatur
- K = Lagerung im Kühlschrank
- B = Lagerung im Brutschrank

Ein Beispiel zur Erläuterung:

A1-1L-c d. h. die hergestellte Spermaspur des Spenders 1 der Blutgruppe A lagerte 1 Monat bei Zimmertemperatur und wurde vor den weiteren Untersuchungen vollständig getestet.

2.4 Versuchsanordnung und Durchführung

2.4.1 Serologische Untersuchungen

Von den frischen und den gelagerten Spuren wurden mit einer Präpariernadel die Auflagerungen (Samenzellen, auskristallisiertes Lösungsmittel) abgekratzt. Sie dienten dem mikroskopischen Nachweis der Samenzelle (38). Aus der Spur wurde ein Drittel für die Blutgruppenbestimmungen herausgeschnitten. Die restlichen zwei Drittel fanden Verwendung für die immunologischen (s. 2.4.2) und weiteren Untersuchungen (38). Die Blutgruppenbestimmungen in den Spuren wurden wie bei der Auswahl der Probanden mit der Agglutinationsmethode nach HOLZER (18) durchgeführt, so daß hier auf eine Beschreibung verzichtet werden kann (s. 2.2).

2.4.2 Immunologische Untersuchungen

2.4.2.1 Das Antihumanspermaserum

Die von LEITHOFF, H. und LEITHOFF, J. (33) 1961 beschriebene Methode zur Gewinnung des Antihumanspermaserums vom Kaninchen wurde für die erste Untersuchungsreihe übernommen. Ausgewachsene Kaninchen der Rasse " Helle - Großsilber " wurden mit Hilfe von FREUD's Adjuvans und menschlichem Nativsamen immunisiert. Die komplette Form des Adjuvans wurde zur Grundimmunisierung, die inkomplette - ohne getrocknete, hitzeabgetötete Mycobakterien - zur Boosterung verwendet.

Erstere setzt sich zusammen aus:

1,0 ml nativer Samen

2,5 ml Bayol - F (= Paraffinöl)

2,5 ml Falba (= Emulgatorsubstanz)

50 mg mycobacterium butyratum.

Beide Formen des Adjuvans wurden von der Fa. DIFCO
Detroit I, Michigan, USA, bezogen.

Die Immunisierung lief nach folgendem Schema:

- a) Kontrollblutentnahme (= Leerwert) aus der Ohrrendvene des Kaninchens
- b) nach 6 Tagen Injektion von 5 ml des kompletten Adjuvans
- c) nach 15 Tagen parenterale Applikation von 5 ml des inkompletten Adjuvans
- d) nach 22 Tagen erneute Gabe von 5 ml inkompl. Adjuvans
- e) 16 Tage später erneute Boosterung mit 5 ml der inkompletten Form des Adjuvans
- f) nach weiteren 20 Tagen erneute Boosterung mit 5 ml des inkompletten Freudschen Adjuvans.

Nach den Injektionen d), e) und f) wurden jeweils 5 ml Blut entnommen und im Ouchterlony-Test gegen Samenplasma getestet.

Nach beendeter Immunisierung wurde das aus dem Kaninchenblut aufbereitete Serum (Anti-Humansperma-Serum) gefriergetrocknet und je nach Bedarf mit Aqua destillata aufgelöst. Da die zur Verfügung stehende Menge des Antihumanspermaserums in der Zeit der laufenden Versuche nicht ausreichte, stellten mir die BEHRINGWERKE, Marburg, für zwei weitere Untersuchungsreihen das Serum kostenlos zur Verfügung.

Daraus ergaben sich verschiedene Versuchsreihen.

2.4.2.2 Das eingeengte Spureneluat

Die restlichen zwei Drittel der Stofffläppchen wurden in ca. 1 cm² große Stückchen zerschnitten und in Rundbodengläser gebracht. Sie wurden mit 5 ml isotonischer Kochsalzlösung überschichtet und gut durchgeschüttelt. Nach 12 - 16 Stunden Verbleib im Kühlschrank wurden die Stoffstückchen mit einer Pinzette herausgeholt und sorgfältig an der Wand

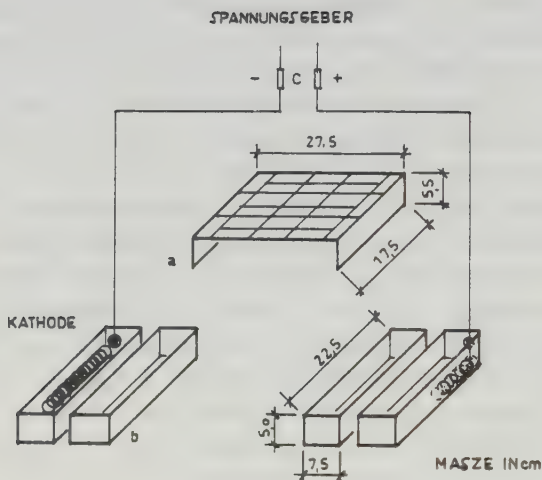
des Gläschens ausgepreßt. Anschließend wurden die Stücken nochmals in einem Stück Aluminiumfolie zwischen den Fingern ausgepreßt, um möglichst wenig Verlust an Eluat zu haben. Dieses Eluat wurde zentrifugiert und 2 ml gefriergetrocknet. Der Rest wurde für andere Untersuchungen abgegeben (38).

Zur Herstellung des eingeengten (konzentrierten) Spureneluates wurde folgende Berechnung durchgeführt:

In 1 ml Samenplasma (spez. Gew. = 1,0306 g) sind 8,9 % Trockensubstanz = 0,0917 g und 91,1 % Wasser = 0,9389 g enthalten. Somit waren in 0,1 ml aufgetropftem Ejakulat 0,0091 g Trockensubstanz und 0,0939 g Wasser enthalten. Um eine Konzentration des Eluates von 3 : 1 zu erhalten, werden demnach bei 0,0939 g Wasser 0,0273 g Trockensubstanz benötigt. Da aber schon vorher ein Drittel des Fleckes herausgeschnitten worden war, mußten 0,0182 g Trockensubstanz und 0,0626 g Wasser zusammengegeben werden, um eine Konzentration von 3 : 1 zu erhalten. Da diese Konzentration sich als nicht hoch genug herausstellte, wurde das Eluat später 6 : 1 konzentriert. Höhere Konzentrationen waren bei der geringen Menge der vorliegenden Trockensubstanz leider nicht möglich. Möglicherweise noch vorhandene korpuskuläre Elemente wie Spermatozoen, Stofffasern o. ä. wurden bei der Berechnung nicht berücksichtigt.

2.4.2.3 Die Immunelektrophorese

Die zur Durchführung der Immunelektrophorese benötigte Apparatur wurde von mir zusammengebaut (s. Abbildung).



Sie bestand im Einzelnen aus:

- einer Glasbrücke mit einer Glasplatte (27,5 x 17,5 cm) und zwei Glasschenkeln (17,5 x 5,5 cm). Die Platte diente zur Aufnahme von 18 Objektträgern, die zu je 6 in Kunststoffhalterungen eingegossen wurden. Die beiden Glasschenkel standen in den inneren Puffertrögen.
- vier Puffertrögen. Es waren handelsübliche Besteckkästen aus Kunststoff. Je zwei Tröge waren für die Anode bzw. Kathode bestimmt. Sie waren durch Filterpapierstreifen miteinander verbunden. In den äußeren Trögen befanden sich aus V - 2A Stahl hergestellte, spiralartige Elektroden.
- dem Netzgerät (Fa. PHILIPS PE 4820)

Die Verbindung zwischen den inneren Puffertrögen und den auf der Glasplatte gelagerten Agargelplatten wurde durch Filterpapier hergestellt, das den Gelplatten etwa 1 cm breit auflag und mit einem 1 cm breiten Glasstreifen beschwert war. Das freie Ende des Filterpapierstreifens lag beiderseits in der Pufferlösung. Um ein Austrocknen der Gelplatten durch die Raumtemperatur und die entstehende Temperatur zu vermeiden, wurden die Gelplatten mit einer KALLE - Folie abgedeckt.

Das Wichtigste bei der praktischen Durchführung einer Immuoelektrophorese ist die Wahl des Puffers, der zur Herstellung des Agargels und als Leitflüssigkeit für den Strom während der elektrophoretischen Auftrennung der Proteingemische dient. KIPPING (21) sieht die unterschiedliche Wahl des Puffers als eine der Ursachen für die unterschiedlichen Anzahlen der gefundenen Präzipitate an. Hier wurde ein Veronal (barbital) - fertiggpuffer der Fa. LBK - PRODUKTER AB S 16125 Bromma 1 Schweden verwendet, der in 1500 ml destilliertem Wasser gelöst einen pH-Wert von 8,6 bei einer Ionenstärke von $0,1 \mu$ hat. Diese Pufferlösung wurde vor jeder Herstellung von Agargelplatten bzw. jeder Elektrophorese neu angesetzt.

Die elektrische Auftrennung der Proteine, sowie die Diffusion des Antiserums und damit die Präzipitatbildung spielt sich in einem 2%igen Agargel ab.

Zur Herstellung benötigt man:

2,0 g Agar purum (Behring-Werke)

50 ml Veronalpuffer pH 8,6; Ionenstärke $0,1 \mu$

50 ml Aqua destillata.

Durch diese Zugabe des destillierten Wassers zum fertiggestellten Puffer erhält man die im Agargel notwendige Ionenstärke von $0,05 \mu$. Dieses Gemisch wird solange erhitzt, bis sich der Agar völlig gelöst hat und die Lösung klar ist.

Der noch heiße Agar wurde auf fettfreie Objektträger gegossen, die zu je 6 in Kunststoffhalterungen untergebracht waren. Nach dem Erstarren wurden mit einer Stanze Einfülllöcher für das aufzutrennende Proteingemisch sowie eine Rinne zur Aufnahme des zur Diffusion bestimmten Antiserums gestanzt.

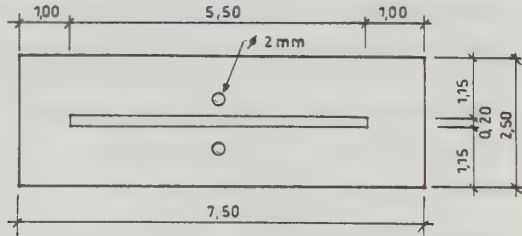


Abb. 3 Originalgröße einer fertigen Agargelplatte

Auf jedem Objektträger konnten somit zwei Elektrophoresen zur gleichen Zeit durchgeführt werden, durch die Kunststoffhalterungen demnach 36 Elektrophoresen zur gleichen Zeit. In die gestanzten Löcher - das ausgestanzte Gel wurde vorher mit einer Wasserstrahlpumpe herausgesaugt - wurden mit einer Eppendorfpipette je 5 μ l des 3 : 1 konzentrierten Spureneluates eingegeben. Nach dem Einfüllen sollte nach SCHWICK (51) für jeden für den Strom zu durchfließenden Zentimeter eine Spannung von 6 Volt angelegt werden. Bei einer Brückenlänge von 27,5 cm mußte also eine Spannung von 165 Volt benutzt werden. Da sich durch Messungen an den Plattenenden herausstellte, daß die Spannung um 50 % abfiel, wurde sie auf 330 Volt verdoppelt. Die von Schwick angegebene Laufzeit sollte 45 Min. betragen. Vorversuche unter dieser Spannung mit Humanalbumin zeigten, daß die Einwirkungszeit der Spannung von 330 Volt ebenfalls verdoppelt werden mußte. Somit wurde eine Spannung von 330 Volt und eine Laufzeit von 90 Min. angelegt.

Nach Ablauf der Elektrophorese wurde der gestanzte Graben ausgehoben und 50 μ l des Antihumanspermaserums eingefüllt. Die Antiseren diffundierten in 20 Stunden bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer. Anschließend wurde das überschüssige Eiweiß in isotonischer Kochsalzlösung ausgewaschen. Die Kochsalzlösung wurde 3 x erneuert. Nach dem Auswaschen wurden die Platten in einem Wärmeschrank bei 30°C getrocknet und zur besseren Darstellung der erwarteten Präzipitationsbanden gefärbt.

Als Färbelösung wurde Amidoschwarz in Eisessig verwendet:

Amidoschwarz	1,0 g
Eisessig	100,0 ml
Methanol	700,0 ml
Aqua dest.	ad 1000,0 ml .

Die getrockneten Präparate lagen 10 Min. in dieser Färbelösung und anschließend wurde die überschüssige Farbe ausgewaschen.

Das Lösungsmittel bestand aus:

Methanol	4,5 l
Essigsäure	1,5 l
Aqua dest.	4,5 l .

Nach der Fertigstellung der ersten Reihe von Immunelektrophoresen, wobei 3 : 1 konzentriertes Eluat elektrophoretisch aufgetrennt worden war, stellte sich heraus, daß sich zu wenige und zu schwache Präzipitationsbanden dargestellt hatten. Deshalb wurde das Spureneluat auf 6 : 1 konzentriert. Da außerdem zu wenig Anti-Menschsperma-Serum vorhanden war, mußte ich auf Anti-Mensch-Serum zurückgreifen, so daß verschiedene Versuchsreihen ergaben:

- 1.) Immunelektrophoresen von frischen Spuren der Spender (Sp) 1 - 12 mit 3 : 1 konzentriertem Eluat gegen Anti-Humansperma-Serum (AHSpS) v. eig. Kaninchen;

- 2.) Immunelektrophoresen der Spuren 13 - 22 aus allen Lagerungsreihen mit 6 : 1 konzentriertem Eluat mit AHSpS v. eig. Kaninchen;
- 3.) Immunelektrophoresen der Spuren 23 - 30 aus allen Lagerungsreihen mit 6 : 1 konzentriertem AHSpS der Behring-Werke, Marburg;
- 4.) Immunelektrophoresen der Spuren 31 + 32 aus allen Lagerungsreihen mit 6 : 1 konzentriertem Eluat gegen Anti-Mensch-Serum der Behring-Werke, Marburg.

3. E R G E B N I S S E

3.1 Ergebnisse der serologischen Untersuchungen (Tabellen siehe Anhang)

Spuren der Blutgruppe A (n = 14)

In den Spuren der Angehörigen der Blutgruppe A ließen sich sowohl im frischen Zustand, als auch nach Ablauf der Lagerungszeit unter den verschiedenen Bedingungen die Blutgruppe A ohne jegliche Veränderung der Titerhöhen gegenüber den Voruntersuchungen feststellen. Dabei spielte es keine Rolle, ob die Spermaspuren mit keinem Teil des Testes, nur mit dem Lösungsmittel oder mit dem gesamten Schnelltest in Kontakt gekommen war.

Spuren der Blutgruppe B (n = 7)

Auch hier fanden sich keinerlei Veränderungen in der Nachweisbarkeit der Blutgruppe B und in den Titerhöhen gegenüber den Voruntersuchungen.

Spuren der Blutgruppe O (n = 6)

Hier fand sich ein Titerabfall von 2 Stufen bei der Spermaspur 4, die einen Monat bei Zimmertemperatur gelagert war und anschließend voll getestet wurde. Eine Kontrolle brachte jedoch keinen Titerabfall mehr, so daß hier ein methodi-

scher Fehler vorgelegen haben muß. Die übrigen Untersuchungen brachten keine Besonderheiten mehr.

Spuren der Blutgruppe AB (n = 5)

Bei der Austitrierung der Inkubate der hergestellten Spuren der Spermaspender der Blutgruppe AB fanden sich einige Abweichungen gegenüber den Voruntersuchungen. Bei 9 Spuren fanden sich Titerabfälle von 0-1 Stufe. Kontrollen zeigten jedoch auf, daß technische Fehler vorgelegen haben müssen, da jetzt kein Titerabfall mehr zu verzeichnen war.

Nur bei der Spur AB - 5 waren deutliche Veränderungen festzustellen. Bei der Austitrierung des Serums nach der Inkubationszeit zeigten A-Testblutkörperchen nie eine Agglutination, wogegen B-Testerythrozyten in allen Stufen agglutiniert wurden. Häufige Kontrollen brachten immer das gleiche Ergebnis. Leider konnte der Spender nicht mehr ausfindig gemacht werden, so daß eine Kontrolluntersuchung des Speichels nicht mehr durchgeführt werden konnte. Aus dem vorliegenden Ergebnis ist der Spender AB - 5 fälschlicherweise der Gruppe AB zugeordnet worden, obwohl er Angehöriger der Blutgruppe A war. -

3.2 Ergebnisse der immunologischen Untersuchungen

Bei allen Immunelektrophoresen, die mit Antihumanspermaserum vom Kaninchen durchgeführt wurden, fanden sich mehr oder weniger ausgeprägte, zarte Banden im Bereich der Auftragstelle des Eluates. Dabei war es gleich, ob es sich um 3 : 1 oder 6 : 1 konzentriertes Eluat gehandelt hat. Ebenfalls fand sich kein Unterschied bei der Verwendung des Antihumanspermaserums vom eigenen Kaninchen oder dem der Behring-Werke, Marburg.



Abb. 4 Immunelektrophorese einer frischen Spur;
unbehandelt (oben) - ganz getestet (unten);
Konzentration 3 : 1, eigenes Kaninchenserum



Abb. 5 Immunelektrophorese einer 1 Monat bei Raum-
temperatur gelagerten Spur;
unbehandelt (oben) - ganz getestet (unten);
Konzentration 6 : 1, eigenes Kaninchenserum



Abb. 6 Immunelektrophorese einer 1 Monat im Brutschrank
gelagerten Spur;
unbehandelt (oben) - ganz getestet (unten);
Konzentration 6 : 1, eigenes Kaninchenserum



Abb.10 Immunelektrophorese einer 2 Monate im Kühlschrank
gelagerten Spur;
unbehandelt (oben) - ganz getestet (unten);
Konzentration 6 : 1, Behring-Serum

Die Immunelektrophoresen der beiden Spuren, bei denen 6 : 1
konzentriertes Eluat aufgetrennt worden war und anschließend
gegen Anti-Mensch-Serum diffundierte, zeigten dagegen deut-
liche Präzipitate im Albuminbereich.

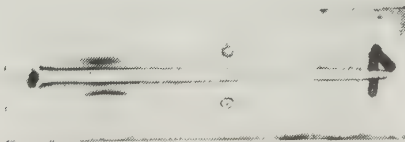


Abb.11 Immunelektrophorese einer 2 Monate gelagerten Spur;
unbehandelt (oben) - ganz getestet (unten);
Konzentration 6 : 1 gegen Anti-Mensch-Serum der
Behring-Werke, Marburg

Eine Veränderung der gefundenen Banden bei allen Immunelektro-
phoresen gegen Anti-Mensch-Serum fand sich nicht.



Abb. 7 Immunelektrophorese einer 1 Monat im Kühlschrank
gelagerten Spur;
unbehandelt (oben) - ganz getestet (unten);
Konzentration 6 : 1, eigenes Kaninchenserum

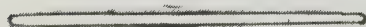


Abb. 8 Immunelektrophorese einer 2 Monate bei Raum-
temperatur gelagerten Spur;
unbehandelt (oben) - ganz getestet (unten);
Konzentration 6 : 1, Behring-Serum



Abb. 9 Immunelektrophorese einer 2 Monate im Brutschrank
gelagerten Spur;
unbehandelt (oben) - ganz getestet (unten);
Konzentration 6 : 1, Behring-Serum

4. DISKUSSION

Der Nachweis von Sperma in verdächtigen Spuren ist für die Aufklärung von Sittlichkeitsdelikten von unumstrittener Bedeutung. Als Beweis gilt nur der Nachweis der völlig intakten Samenzelle. Da aber durch vielerlei Umstände und Zufälle (s. Absatz 1.1) dies häufig nicht möglich ist, wurde schon frühzeitig versucht, den Spermanachweis auf andere Weise zu führen. Leider waren jedoch die Ergebnisse der Versuche unbefriedigend wegen der Unspezifität, wegen der oft falsch-negativen oder auch falsch-positiven Aussagen (5,15,16,28,38) und wegen des nachgewiesenen ubiquitären Vorkommens des Enzyms "saure Phosphatase", auf dessen Vorhandensein sich ein Teil der Tests stützte.

Im Laufe der Jahre wurden deshalb weitere Untersuchungsmethoden entwickelt, um bei Fehlen von Spermatozoen den Nachweis dennoch zu versuchen, daß es sich bei dem zu untersuchenden Material um Spuren menschlichen Ejakulats handelt oder nicht. Hierzu zählen vor allem:

1.) Die Immunelektrophorese.

2.) Die Bestimmung der Blutgruppe im Samenplasma.

Da die vorgenannten Untersuchungen unbedingt nach einer qualitativen Suchprobe durchgeführt werden müssen, könnte die routinemäßige, kritiklose Anwendung eines auf Farbreaktionen basierenden Schnellnachweises verhängnisvoll sein. Es war deshalb von größter Wichtigkeit zu prüfen, ob der mir vorliegende Schnellnachweis von Sperma der Fa. MERCK AG, Darmstadt, eine dieser Untersuchungen beeinflussen würde.

4.1 Diskussion der Ergebnisse der serologischen Untersuchungen

Nachdem vorher (38) die Testung der hergestellten Spermaspuren immer positiv verlief, lassen die Ergebnisse der

serologischen Untersuchungen drei wesentliche Aussagen zu:

1. Die Anwendung des Testes beeinträchtigte in keiner Weise die Nachweisbarkeit der ausgeschiedenen Blutgruppensubstanzen durch die Bestimmung der Blutgruppe in den zu untersuchenden Spermaspuren. Hierbei war es auch ohne Bedeutung, wie lange und auf welche Art die Spuren gelagert waren. GERKHARDT (58) kam bei seinen Untersuchungen zum gleichen Ergebnis.
2. Diese Erkenntnisse bestätigten die Aussagen von THERKELSEN (54) aus den Jahren 1936 und 1937. Er hatte festgestellt, daß weder die Art noch die Dauer der Lagerung Einflüsse auf die Nachweisbarkeit der Gruppensubstanzen hätten.
3. Vergleiche der Agglutinationsstärken bei der Untersuchung des Speichels der Probanden und deren Samenplasma bestätigten die Erkenntnisse von PUTKONEN (44), der 1930 feststellte, daß in Speichel und Sperma die gleiche Menge blutgruppenspezifischer Substanzen ausgeschieden wird.

Lediglich die hergestellten Spuren des Spermaspenders 5 der Blutgruppe AB zeigten starke Abweichungen. Im Gegensatz zur Speichelprobe wiesen die Untersuchungen an den Spermaspuren eine Agglutination von B-Testblutkörperchen auf. Es muß hier angenommen werden, daß bei der Speicheluntersuchung ein grober Fehler unterlaufen war und der Spender AB-5 Träger der Blutgruppe A war. Eine Kontrolle war leider nicht möglich, weil der Proband nicht mehr aufzufinden war.

4.2 Diskussion der Ergebnisse der immunologischen Untersuchungen

Die Anwendung des Schnelltestes beeinträchtigte die immunoelektrophoretische Auftrennung des menschlichen Spermas nicht. Allerdings schien es, daß die Anwendung des Testes die Anzahl der Präzipitationsbanden verringern könnte.

Leithoff und andere Autoren (29-34,45) fanden bei der immunoelektrophoretischen Untersuchung des menschlichen Samenplasmas 4 bis 11 Präzipitate, wogegen bei meinen Untersuchungen nur 2 - 3 Banden gefunden werden konnten. Daß diese geringe Zahl nicht auf die Verwendung eines Teiles des Testes oder der Anwendung des gesamten Testes zurückgeführt werden konnte, ergab sich dann aus der vergleichenden Beobachtung der einzelnen gefärbten Immunoelektrophoresen. Die Anzahl der gefundenen Präzipitate blieb gleich, gleichgültig, ob das untersuchte Spureneluat von einem Spermafleck stammte, der nicht mit einem Teil des Testes in Berührung gekommen war, oder ganz nach Vorschrift des Herstellerwerkes getestet wurde. Die Ursachen sind anderswo zu suchen:

Leithoff verwendete für seine Untersuchungen zum Teil eingengtes, natives Samenplasma oder durch Ultra- bzw. Druckfiltration konzentriertes Eluat aus Spuren, die in 0,15 ml isotonischer Kochsalzlösung eluiert worden waren. Mir dagegen lag nur ein Spureneluat vor, das in 5 ml isotonischer Kochsalzlösung eluiert wurde und von dem anschließend 2 ml des Eluates gefriergetrocknet wurden. Daraus ergibt sich folgende Berechnung, die deutlich aufzeigt, daß mir ein Eluat zur Differenzierung zur Verfügung stand, das zuwenig Eiweißkörper und damit zuwenig Antigene zur elektrophoretischen Auftrennung und zur Präzipitationsbildung enthielt. (s. Seite 16, Absatz 2.4.2.2)

Schon hierin liegt einer der Gründe, die KIPPING (21) mit als Ursache für die unterschiedliche Anzahl der gefundenen Eiweißfraktionen fand (s. Absatz 1.1). Ein weiterer Grund, besonders für die geringe Auftrennung des zu untersuchenden Proteingemisches, sah Kipping in der Wahl des Puffers in Bezug auf pH und Ionenstärke. Leithoff verwendete einen Puffer der Ionenstärke von $\mu = 0,1$ bei einem pH-Wert von 8,2; bei meinen Untersuchungen lag aber der

pH-Wert bei 8,6. Ein weiterer Grund könnte darin liegen, daß die Spannung und Laufzeit, die von mir durch Messungen an den Plattenenden und durch die Beobachtung der Wanderung von markiertem Humanalbumin mit 330 Volt und 90 Min. festgelegt worden war, zu groß waren, daß die schnell wandernden Albumine verschwunden waren, ehe die Elektrophorese beendet war. Eigentümlich allerdings ist dabei die Beobachtung, daß bei der Immunelektrophorese von 6 : 1 konzentriertem Spureneluat mit Anti-Mensch-Serum dennoch eine Präzipitation im Bereich der Albumine zeigte, was bei einem gleichen Versuch schon Leithoff festgestellt hatte. Ob sich möglicherweise die Spannung des Spannungsgebers im Laufe der Versuche geändert hat, kann jetzt nicht mehr gesagt werden. Eine Überprüfung während der laufenden elektrophoretischen Auftrennung des Proteingemisches war leider wegen fehlender Apparaturen nicht möglich.

PFAFF (38) und später STEIN (52,53) fanden an kurz- und langfristig gelagerten Ejakulatspuren nach der Anwendung des Schnelltestes deutliche Abnahmen in der Aktivität der untersuchten sauren Phosphatase, wogegen hier keine Abnahmen in der Nachweisbarkeit der menschlichen Spermaeiweißkörper in der Immunelektrophorese gefunden werden konnten. Dies erscheint auf den ersten Blick deshalb erstaunlich, da es sich bei der sauren Phosphatase schließlich auch um Eiweißkörper handelt.

Stein (52) glaubt erkannt zu haben, daß die Minderung nur bei den vollständig getesteten Spuren auftrat. Er folgerte daraus, daß "eine beachtliche Menge des Enzyms auf das Spezialpapier übergeht und somit der photometrischen Messung entgeht".

Ein vollständiger Zerfall von Eiweißfraktionen, die sich in der Immunelektrophorese darstellen lassen, fand sich jedoch nicht. GERKHARDT fand - selbst bei einer Lagerung von einem Jahr - keine wesentlichen Störungen der sero -

logischen und immunologischen Reaktionen . Das besagt aber nicht , daß keine Abnahme stattgefunden hat . Um dies zu überprüfen , müßte man ähnliche Versuche mit stark eingeeengtem nativen Samenplasma durchführen . bei denen eine möglichst große Anzahl von Eiweißfraktionen vorher in der Immunelektrophorese festgestellt werden , um genaue Aussagen machen zu können .

5. Z U S A M M E N F A S S U N G

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob ein von der Fa. E. MERCK AG, Darmstadt, entwickelter orientierender Suchtest für Spermaspuren sich möglicherweise negativ auf spätere Zusatzuntersuchungen auswirkt. Der Test basiert auf dem Vorhandensein von saurer Phosphatase im Samenplasma durch Bildung eines blauvioletten Azofarbstoffes. Hierzu wurden von 32 Probanden, deren Ausscheidermerkmal "Se" in Vorversuchen im Speichel nachgewiesen worden war, Spermaspuren hergestellt, die verschieden lang unter verschiedenen Bedingungen gelagert worden waren:

1. ein Teil der hergestellten Spuren wurden sofort untersucht, wobei ein Drittel nicht mit einem Teil des Testes in Berührung gekommen war, ein zweites Drittel nur mit dem Lösungsmittel benetzt worden war und ein letztes Drittel ganz getestet worden war.
2. ein zweiter Teil wurde zu je einem Drittel über die Dauer eines Monats bei Raumtemperatur, bei $+4^{\circ}\text{C}$ im Kühlschrank und bei $+40^{\circ}\text{C}$ im Brutschrank gelagert.
3. ein letzter Teil wurde wie unter 2. angegeben gelagert, jedoch über die Dauer von 2 Monaten.

Die unter 2. und 3. gelagerten Spuren wurden später vor den weiteren Untersuchungen wie unter 1. beschrieben behandelt. Anschließend wurden in allen Spuren die Blutgruppen festgestellt und die Agglutinationsstärken mit den Untersuchungen

der Speichelpollen verglichen. Weder die unterschiedliche Lagerung, noch die vollständige und teilweise Anwendung des Tests ergaben Veränderungen in der Nachweisbarkeit der Blutgruppensubstanzen.

In einer zweiten Untersuchungsreihe wurde aus den Spuren ein gefriergetrocknetes Eluat hergestellt und immun-elektrophoretisch untersucht. Hier ließen sich nach der Diffusion mit Anti-Menschsperma-Serum vom Kaninchen immer nur 2 - 3 Präzipitationsbanden nahe der Auftragstelle des Proteingemisches feststellen. Nach der Diffusion mit Anti-Mensch-Serum fand sich immer nur eine Bande im Albuminbereich. Dabei war es gleichgültig, ob die hergestellten Spermaspuren nicht mit dem Test oder nur mit dem Lösungsmittel in Berührung kamen oder den Angaben des Herstellerwerkes entsprechend ganz getestet wurden. Die unterschiedlichen Lagerungsbedingungen brachten auch keine Veränderungen.

Bei meinen Versuchen fand sich eine zu geringe Anzahl von Eiweißfraktionen, die keine Veränderungen nach der Anwendung des Testes erkennen ließen. Es ist jedoch nicht auszuschließen, daß bei Verwendung von stark eingeeignetem Nativsamenplasma eine der Eiweißfraktionen negativ beeinflusst werden könnte.

6. A N H A N G

Tabellen

Für die folgenden Tabellen gelten die nachstehenden Bezeichnungen zur Unterscheidung der Agglutinationsstärken während der serologischen Untersuchungen:

++++	=	sehr deutliche Agglutination der Testblutkörperchen
+++	=	deutliche, noch ohne Lupe erkennbare Agglutination
++	=	eine Agglutination ist mit einer Lupe noch gut zu erkennen
+	=	mit der Lupe ist eine Agglutination noch erkennbar
(+)	=	auch mit der Lupe ist eine Agglutination nur noch als zweifelhaft zu bezeichnen
-	=	bei Lupenbetrachtung ist keine Agglutination mehr erkennbar.

Auf eine mikroskopische Betrachtung wurde wegen des Umfanges der Untersuchungen verzichtet, wenn auch einzelne Kontrollen unter dem Mikroskop noch deutliche Erythrozytenagglutinationen erkennen ließen, wenn dies unter Lupenbetrachtung nicht mehr möglich war.

Tabelle 1

Vergleichende Aufstellung der Agglutinationsstärken des polyvalenten O-Serums vor und nach der Absorption der A₂-Antikörper durch A₂-Erythrozyten.

Titerhöhen	Agglutinationsstärken nach Zugabe von Testblutkörperchen der Blutgruppen:							
	A1	A2	B	O	A1	A2	B	O
1 : 1	++++	+++	++++	-	++++	-	++++	-
1 : 2	++++	+++	++++	-	++++	-	++++	-
1 : 4	++++	++	++++	-	++++	-	++++	-
1 : 8	++++	++	++++	-	++++	-	++++	-
1 : 16	++++	++	++++	-	++++	-	++++	-
1 : 32	++++	+	++++	-	++++	-	++++	-
1 : 64	+++	(+)	+++	-	+++	-	+++	-
1 : 128	+++	-	+++	-	+++	-	+++	-
1 : 256	++	-	++	-	++	-	++	-
1 : 512	+	-	+	-	+	-	+	-

polyvalentes
O-Serum

A₂-absorbier-
tes O-Serum

Tabelle 2

Vergleichende Aufstellung der Agglutinationsstärken des unverdünnten polyvalenten O-Serums zu dem im Verhältnis 1 : 1 mit isotonischer Kochsalzlösung verdünnten O-Serum

Titer- höhen	Agglutinationsstärken nach Zugabe von Testblutkörperchen der Blutgruppen:							
	A1	A2	B	O	A1	A2	B	O
1 : 1	++++	+++	++++	-	++++	++	++++	-
1 : 2	++++	+++	++++	-	+++	+	+++	-
1 : 4	++++	++	++++	-	+++	+	+++	-
1 : 8	++++	++	++++	-	+++	+	+++	-
1 : 16	++++	++	++++	-	++	(+)	++	-
1 : 32	++++	+	++++	-	+	-	+	-
1 : 64	+++	(+)	+++	-	(+)	-	(+)	-
1 : 128	+++	-	+++	-	(+)	-	(+)	-
1 : 256	++	-	++	-	-	-	-	-
1 : 512	+	-	+	-	-	-	-	-

polyvalentes
O-Serum, unver-
dünnt

polyvalentes
O-Serum, 1 : 1
mit isotonischer
NaCl-Lösung ver-
dünnt

Tabelle 3

Ergebnisse der Speicheluntersuchungen der 32 Spermaspender mit dem Ausscheidermerkmal "Se" im Hinblick auf die Agglutinationsstärken und der Blutgruppenzugehörigkeit; Versuche mit 1 : 1 verdünntem polyvalenten, von A₂-Antikörpern befreitem O-Serum. Die Zugehörigkeit zur Blutgruppe O wurde mit Anti-H-Serum überprüft.

Proband Nr.	Test- ervs	Agglutinationsstärken bei Titerhöhen:					Ergeb- nis:
		1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	
1	A	-	-	-	-	-	A
	B	++++	+++	+++	+++	++	
	O	-	-	-	-	-	
2	A	-	-	-	-	-	A
	B	++++	+++	+++	+++	++	
	O	-	-	-	-	-	
3	A	-	-	-	-	-	A
	B	++++	+++	+++	+++	++	
	O	-	-	-	-	-	
4	A	-	-	-	-	-	A
	B	++++	+++	+++	+++	++	
	O	-	-	-	-	-	
5	A	-	-	-	-	-	A
	B	++++	+++	+++	+++	++	
	O	-	-	-	-	-	
6	A	-	-	-	-	-	A
	B	++++	+++	+++	+++	++	
	O	-	-	-	-	-	
7	A	-	-	-	-	-	A
	B	++++	+++	+++	+++	++	
	O	-	-	-	-	-	

Fortsetzung Tabelle 3

Proband Nr.	Test- erys	Agglutinationsstärken bei Titerhöhen:					Blut- gruppe
		1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	
8	A B O	- ++++ -	- +++ -	- +++ -	- +++ -	- ++ -	A
9	A B O	- ++++ -	- +++ -	- +++ -	- +++ -	- ++ -	A
10	A B O	- ++++ -	- +++ -	- +++ -	- +++ -	- ++ -	A
11	A B O	- ++++ -	- +++ -	- +++ -	- +++ -	- ++ -	A
12	A B O	- ++++ -	- +++ -	- +++ -	- +++ -	- ++ -	A
13	A B O	- ++++ -	- +++ -	- +++ -	- +++ -	- ++ -	A
14	A B O	- ++++ -	- +++ -	- +++ -	- +++ -	- ++ -	A
15	A B O	++++ - -	+++ - -	+++ - -	+++ - -	++ - -	B
16	A B O	++++ - -	+++ - -	+++ - -	+++ - -	++ - -	B

Fortsetzung Tabelle 3

	Agglutinationsstärken bei Titerhöhen:					Ergeb- nis:	
Proband Nr.	Test- erys	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	Blut- gruppe
17	A B O	++++ - -	+++ - -	+++ - -	+++ - -	++ - -	B
18	A B O	++++ - -	+++ - -	+++ - -	+++ - -	++ - -	B
19	A B O	++++ - -	+++ - -	+++ - -	+++ - -	++ - -	B
20	A B O	++++ - -	+++ - -	+++ - -	+++ - -	++ - -	B
21	A B O	++++ - -	+++ - -	+++ - -	+++ - -	++ - -	B
22	A B O	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	AB
23	A B O	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	AB
24	A B O	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	AB
25	A B O	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	AB

Fortsetzung Tabelle 3

Proband Nr.	Test- erys	Agglutinationsstärken bei Titerhöhen:					Ergeb- nis:
		1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	
26	A B O	-	-	-	-	-	AB
27	A B O	++++	+++	+++	+++	++	O
28	A B O	++++	+++	+++	+++	++	O
29	A B O	++++	+++	+++	+++	++	O
30	A B O	++++	+++	+++	+++	++	O
31	A B O	++++	+++	+++	+++	++	O
32	A B O	++++	+++	+++	+++	++	O

In der folgenden Tabelle sind die Abfälle der Titerstufen in Bezug auf die Agglutinationsstärken bei der Untersuchung der hergestellten und verschieden gelagerten Spermaspuren aufgezeichnet. Bezugsgrößen waren die Agglutinationsstärken bei der Untersuchung der Speichelproben. Die einzelnen Ejakulatspuren wurden nach folgendem Schlüssel gekennzeichnet:

A1, B1 usw.	=	Spender mit der Blutgruppenzugehörigkeit zu A, B usw. in fortlaufender Nummerierung
O	=	frische, nicht gelagerte Spur
1	=	diese Spuren wurden einen Monat gelagert
2	=	diese Spuren wurden zwei Monate gelagert
L	=	Lagerung bei Zimmertemperatur
B	=	Lagerung im Brutschrank
K	=	Lagerung im Kühlschrank
a	=	diese Spuren kamen mit keinem Bestandteil des Testes in Berührung
b	=	diese Spuren wurden nur mit dem Lösungsmittel angefeuchtet
c	=	diese Spuren wurden nach Vorschrift getestet.

Ein Beispiel: A1-1L-c d. h., die hergestellte Spermaspur des Spenders 1 der Blutgruppe A lagerte 1 Monat bei Zimmertemperatur und wurde vor den weiteren Untersuchungen nach der Vorschrift des Herstellerwerkes vollständig getestet.

Tabelle 4

Ergebnisse der Blutgruppenbestimmungen aus den einzelnen Spermaspuren in Bezug auf den Titerabfall nach Blutgruppenzugehörigkeit geordnet.

Blutgruppe A

[illegible]

Fortsetzung Tabelle 4

Blutgruppe B

Abfall der Titerhöhen in Stufen								
lfde. Nr.	1	2	3	4	5	6	7	Spur
B-0-a b c	-	-	-	-	-	-	-	-
B-1La b c	-	-	-	-	-	-	-	-
B-1Ba b c	-	-	-	-	-	-	-	-
B-1Ka b c	-	-	-	-	-	-	-	-
B-2La b c	-	-	-	-	-	-	-	-
B-2Ba b c	-	-	-	-	-	-	-	-
B-2Ka b c	-	-	-	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tabelle 4

Blutgruppe AB

Abfall der Titer- höhen in Stufen					
Spur	lfde. Nr.				
	1	2	3	4	5
AB-O-a	-	-	-	-	?
b	1	-	-	O/1	?
c	1	-	-	O/1	?
AB-1La	-	-	-	-	?
b	O/1	-	-	-	?
c	-	-	O/1	O/1	?
AB-1Ba	-	-	-	-	?
b	-	-	-	-	?
c	-	-	-	-	?
AB-1Ka	-	-	-	-	?
b	-	-	-	-	?
c	-	-	-	-	?
AB-2La	O/1	-	-	-	?
b	-	-	-	-	?
c	-	-	-	-	?
AB-2Ba	-	O/1	-	-	?
b	-	-	-	-	?
c	-	-	-	-	?
AB-2Ka	-	-	-	-	?
b	-	-	-	-	?
c	-	-	-	-	?

Blutgruppe O

Abfall der Titer- höhen in Stufen						
Spur	lfde. Nr.					
	1	2	3	4	5	6
O-O-a	-	-	-	-	-	-
b	-	-	-	-	-	-
c	-	-	-	-	-	-
O-1La	-	-	-	-	-	-
b	-	-	-	-	-	-
c	-	-	-	-	-	-
O-1Ba	-	-	-	-	-	-
b	-	-	-	-	-	-
c	-	-	-	-	-	-
O-1Ka	-	-	-	-	-	-
b	-	-	-	-	-	-
c	-	-	-	-	-	-
O-2La	-	-	-	-	-	-
b	-	-	-	-	-	-
c	-	-	-	-	-	-
O-2Ba	-	-	-	-	-	-
b	-	-	-	-	-	-
c	-	-	-	-	-	-
O-2Ka	-	-	-	-	-	-
b	-	-	-	-	-	-
c	-	-	-	-	-	-

Das völlig falsche Ergebnis der Spurenuntersuchung der Spuren des Spermaspenders AB-5 ist hier nur mit einem ? versehen, da es im Text ausführlich besprochen wurde. (s. 3.1 + 4.1)

7. L I T E R A T U R

1. BERG, St. P.
Neue Methoden für die Beweismitteluntersuchung bei
Sittlichkeitsdelikten.
Kriminalistik 8, 25 (1948)
2. BOETTCHER, B.
Human ABO blood group antigens on spermatozoa from
secretors and non secretors.
J.Reprod.Fertil. 9, 267 (1964)
3. BOLTZ, W. und FLOBERGER, U.
Der enzymatische Nachweis kleinster Mengen mensch-
lichen Ejakulates in der forensischen Praxis.
Arch.Kriminol. 117, 17 (1956)
4. BRAHM, B. und SCHIFF, F.
Das chemische Verhalten der serologischen Grundstoffe
A- und B, ihr Vorkommen und ihr Nachweis in Körper-
flüssigkeiten.
Klin.Wschr. 8, 33, 1523 (1929)
5. BULLE, P.
Der PURANEN'sche Spermanachweis und seine forensische
Bedeutung.
Diss.Med.Fak.München (1950)
6. CLARKE, C.A. und Mitarb.
A genetical study of the variations in ABO secretion.
Ann.Hum.Gen.(Lond.) 24, 295 (1960)
7. DAHR, P.
Die Technik der Blutgruppen- und Blutfaktoren-
bestimmung.
Thieme Verl. Stuttgart (1964) 4. Aufl.
8. FLORENCE, C.
Des cristeaux du sperme.
Archs.Anthrop.crim. 21, 689 (1897)

9. FORMAGGIO, T.G.
Speichelausscheidung von Gruppensubstanzen innerhalb
des ABO - Systems.
Zbl.Bakt. 159, 1/2 . 135 (1952)
10. FOTONIO, M. und ALOMAN, S.
Diagnose des Ausscheidertypus mit pflanzlichem
. Anti - H (Evonymus europaea).
Fol.haemat. N.F. 3 / 2, 227 (1959)
11. FRIEDENREICH, V. und HARTMANN, G.
Über die Verteilung der Gruppenantigene der sogenann-
ten Ausscheider und Nichtausscheider.
Zschr.Immunit.Forsch. 92, 141 (1938)
12. GIBB, B.
Vergleichende Untersuchungen zur Ausscheidung gruppen-
spezifischer Substanzen des ABO (H) - Systems im
Speichel und Urin (eine Revision der Putkonenschen Daten)
Zschr.ärztl.Fortbild. (2. Sonderheft: Blutgruppen)
59, 4, 185 (1965)
13. GRABAR, P.
Immunelektrophoretische Analyse
(Vortrag gehalten in den BEHRINGWERKEN Marburg / Lahn
am 4.6.1954)
Behringwerkemitteilungen 30, 23 (1955)
14. GRABAR, P. und WILLIAMS, C.A.
Méthodes immunoélectrophoriques d'analyse de mélange
de substances antigéniques.
Biochim.biophys,acta 17, 67 (1955)
15. HAUCK, G. und LEITHOFF, H.
Die Phosphatasebestimmung als gerichtsmedizinischer
Spermanachweis.
Dtsch.Zschr.gerichtl.Med. 49, 5 (1959)
16. HAUCK, G. und LEITHOFF, H.
Beobachtungen über das Vorkommen von Phosphatasen in
Gartenpflanzen.
Dtsch.Apoth.Ztg. 99, 351 (1959)

17. HERMANN, G. und Mitarb.
Zur Identität von menschlichem Samenplasma und
Serumeiweißen.
Naturwiss. 45, 268 (1958)
18. HOLZER, F.
Ein einfaches Verfahren zur Gruppenbestimmung
an vertrocknetem Blut durch Agglutininbindung.
Zschr.gerichtl.Med. 16, 445 (1931)
19. HÖHN, P., WALTHER, G. und LEITHOFF, H.
Discelektrophoretische Differenzierung
saurer Phosphatasen verschiedener Herkunft.
Zschr.Rechtsmed. 68, 129 (1971)
20. HUMMEL, K. und SCHÖCK, J.
Untersuchungen über die Ausscheidung von Anti-A
und Anti-B-Hämagglutininen im menschlichen Mundspeichel.
Zschr.Immunit.Forsch. 133, 1, -80 (1967)
21. KIPPING, D.
Die Bedeutung der Elektrophorese bei der Untersuchung
der Eiweisse des menschlichen Spermatoplasmas.
Derm.Mschr. 157, 589 (1971)
22. KREFFT, S.
Über das Vorkommen von Gruppensubstanzen in mensch-
lichen Haaren.
Dtsch.Mschr.gerichtl.Med. 4, 395 (1953)
23. KUTSCHER, W. und WOLBERGS, H.
Prostataphosphatase I
Hoppe-Seylers Zschr.physiol.Chem. 236, 237 (1935)
24. KUTSCHER, W. und WÖRNER, A.
Prostataphosphatase II
Hoppe-Seylers Zschr.physiol.Chem. 239, 109 (1936)
25. KUTSCHER, W. und PANY, J.
Prostataphosphatase III
Hoppe-Seylers Zschr.physiol.Chem. 255, 169 (1938)

26. LANDSTEINER, K. und LEVINE, P.
On group-specific substances in human spermatozoa
J.Immunol. 12, 415 (1926)
27. LATTES, L.
Gruppenspezifische Substanzen außerhalb des Blutes.
Arch.f.Kriminolog. 101, 200 (1936)
28. LEHRS, H.
Über gruppenspezifische Eigenschaften des menschlichen Speichels.
Zschr.Immunit.Forsch. 66, 1/2, 175 (1930)
29. LEITHOFF, H.
Immunelektrophoretische Untersuchungen des menschlichen Samenplasmas.
Med.Ges.Freiburg Br. 9.5.1961
Klin.Wschr. 20, 1089 (1961)
30. LEITHOFF, H.
Der gerichtsmedizinische Spermanachweis.
Habil.Med.Fak.Freiburg i. Br. 1962
31. LEITHOFF, H.
Neue Methoden der gerichtsmedizinischen Untersuchung von Spermaflecken.
Fort.Med. 14, 493 (1964)
32. LEITHOFF, H. und KUZIAS, G.A.
Der forensische Spermanachweis in verdächtigen Flecken.
Arch.f.Kriminol. 120, 9 (1957)
33. LEITHOFF, H. und LEITHOFF, J.
Bluteiweißkörper im menschlichen Samenplasma mit Hilfe der Immunelektrophorese.
Med.Welt 21, 1137 (1961)
34. LEITHOFF, H. und LEITHOFF, J.
Neue Ergebnisse immunelektrophoretischer Untersuchungen des menschlichen Samenplasmas.
Med.Welt 4, 181 (1962)

35. MARESCH, W. und WEHRSCHÜTZ, E.
Untersuchungen über die Ausscheidereigenschaft.
Tsgg.Dtsch.Ges.gerichtl.Med.München 1963
36. MARESCH, W. und WEHRSCHÜTZ, E.
Untersuchungen über die Ausscheidereigenschaft.
Dtsch.Zschr.gerichtl.Med. 55, 3, 228 (1964)
37. MORGANTI, G.
Rilievi comparativi sulla presenza della
sostanze gruppeo-spezifische in secreti diversi.
Proc.VII th Congr.Soc.Blood Transfusion 701
Karger 1958
38. PFAFF, B.
Methodische Überprüfung eines Sperma-Suchtests.
Untersuchungen mit kurzfristig gelagerten Ejakulat-
spuren.
Diss.Med.Fak. Mainz 1976
39. PLATO und GERSCHOWITZ
nach: BECKER, P.E. (Hrsg.) Humangenetik; Bd. I/4 (Blut)
Georg Thieme Verlag Stuttgart; S. 20 ff (1972)
40. POPIVANOV, R. und VULCHANOV, V.H.
Segretation of mans AB-group spermatozoa in A- and
B-spermatozoa through agglutination with anti-A-rabbit
serum.
Zschr.Immunit.Forsch. 124, 205 (1962)
41. PROKOP, O.
Die menschlichen Blut- und Serumgruppen.
Fischer Verl. Stuttgart 1971 3. Aufl.
42. PROKOP, O. und GIBB, B.
Ergänzende Bemerkungen zu der Arbeit von Maresch und
Wehrschütz über die Ausscheidereigenschaft.
Dtsch.Zschr.gerichtl.Med. 56, 221 (1965)
43. PURANEN, U.H.
Eine neue mikrochemische Methode zur Identifizierung
von Sperma.
Dtsch.Zschr.ges.gerichtl.Med. 26, 366 (1936)

44. PUTKONEN, T.
Über gruppenspezifische Eigenschaften verschiedener
Körperflüssigkeiten.
Acta Soc.med.Fenn.Duodecim 14, 2, 107 (1930)
45. ROSSETINI, S.M.O. et al
Immunoelectrophoretical identifications of human
serum proteins present in the human seminal fluid.
Zschr.Immunit.Forsch. 137, 293 (1969)
46. RAMBOW, A., LEITHOFF, H. und HIERSCHE, H.D.
Differenzierung organeigener Proteine aus dem männ-
lichen und weiblichen Genitaltrakt.
7. Int.Tgg.Ges.forens.Blutgr.-kde e.V.
Hamburg, September 1977
47. SCHEIDEGGER, J.J.
Une micromethode de l'immunel'électrophorèse.
Intern.Arch.Allerg.Immun. 7, 103 (1955)
48. SCHIFF, F.
Über gruppenspezifische Serumpräzipitine.
Klin.Wschr. 3, 16, 679 (1924)
49. SCHIFF, F.
Über gruppenspezifische Substanzen des menschlichen
Körpers.
Fischer Verl. Jena 1931
50. SCHIFF, F. und SASAKI, H.
Der Ausscheidertypus, ein auf serologischem Wege
nachweisbares mendelsches Merkmal.
Klin.Wschr. 11, 34. 1426 (1932)
51. SCHWICK, G.
Qualitative Plasmaproteinbestimmung durch Immun-
präzipitation.
Laborblätter (Behringwerke Marburg/Lahn)
8, 11 (1958)
52. STEIN, W.
Mikroskopische, enzymatische und kristallchemische
Untersuchungen an länger gelagerten Sperma- und Urin-
spuren nach Anwendung eines Schnelltestes.
Diss.Med.Fak. Mainz (1976)

53. STEIN, W. und WALTHER, G.
Mikroskopische, enzymatische und kristallchemische
Untersuchungen an länger gelagerten Sperma- und Urin-
spuren nach Anwendung eines Schnelltestes.
Arch.f.Kriminol. 158, Heft 1 + 2 (1976)
54. THERKELSEN, N.
Typenbestimmung bei gerichtsmedizinischen Flecken-
untersuchungen.
Zschr.Rassenphysiol. 8, 85 (1936) und 9, 1 (1937)
55. WALKER, J.
A new test for seminal stains.
New Engl.J.Med. 242, 110 (1950)
56. WALTHER, G. und HÖHN, P.
Aktivitätsbestimmungen der sauren Phosphatase in ver-
schiedenen biologischen Medien unter der Verwendung
von o-Carboxylphenylphosphat.
Zschr.Rechtsmed. 69, 259 (1971)
57. WIENER, A.S. und KOSOFSKI
Quantitative studies on group-specific substances
in human blood and saliva.Group specific substances A
with reference to the subgroups.
J.Immunol. 42, 381 (1941)
58. GERKHARDT, K.-D.
Serologische und immunologische Untersuchungen an
länger gelagerten Spermaspuren nach Anwendung
eines Schnelltestes.
Med.Diss.Mainz (1972)

L E B E N S L A U F

Am 27. März 1941 wurde ich in Ludwigshafen als 2. Sohn des Arztes Dr. med. Egon Heiner mann und seiner Frau Burgi, geb. Becker, geboren.

Nach meiner Einschulung in die Volksschule 1947 besuchte ich ab 1951 die Realschule Zell (Mosel), von wo ich 1954 auf das Staatl. Neuspr. Gymnasium Traben-Trarbach (Mosel) überwechselte. Hier bestand ich 1962 mein Abitur.

Zum Sommersemester 1962 immatrikulierte ich mich an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz für das Fach Medizin, wo ich 1969 das medizinische Staatsexamen ablegte.

Von 1970 bis 1973 absolvierte ich meine Medizinalassistentenzeit und Assistenzarztzeit am Heilig-Geist-Hospital in Bingen/Rhein.

Seit April 1974 bin ich als prakt. Arzt in Bullay an der Mosel niedergelassen.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. LEITHOFF
für das Bereitstellen eines Arbeitsplatzes
im Institut für Rechtsmedizin.

Herrn Prof. Dr. G. WALTHER danke ich für die
Überlassung des Themas und die freundliche
Beratung und Unterstützung während der Arbeit.

Weiterhin danke ich der Firma MERCK AG, Darmstadt,
für Beratung und hierbei besonders Herrn Dr. G. SEITZ.

Den BEHRINGWERKEN, Marburg, gilt mein Dank für
die kostenlose Überlassung von Anti-Humansperma-Serum
und von Anti-Mensch-Serum.

Herzlicher Dank gilt auch Herrn Kriminalhauptkommissar
R. FREUND, der bei der Beschaffung des Spermamaterials
hilfreich zur Seite stand.

Weiteren Dank gilt Herrn Dr. E. Höhmann und Herrn
Ass. Arzt W. Herchenhein, die während der Versuche
immer bereit waren, ihr Blut zur Herstellung des
polyvalenten Anti-Serums und der benötigten A_2 - Blut-
körperchen zu spenden.

Für die Überlassung der Testblutkörperchen sei der
Transfusionszentrale der Universitätskliniken Mainz
gedankt.

